

CULTIVATION TANK

Publication number: JP60251878 (A)

Publication date: 1985-12-12

Inventor(s): FUJIMOTO KENJI; YAMAMOTO OSAMU; KASHIWARA MASATO +

Applicant(s): SEKISUI PLASTICS +

Classification:

- international: C12M3/00; C12M3/02; C12M3/00; C12M3/02; (IPC1-7): C12M3/00

- European:

Application number: JP19840107498 19840529

Priority number(s): JP19840107498 19840529

Also published as:

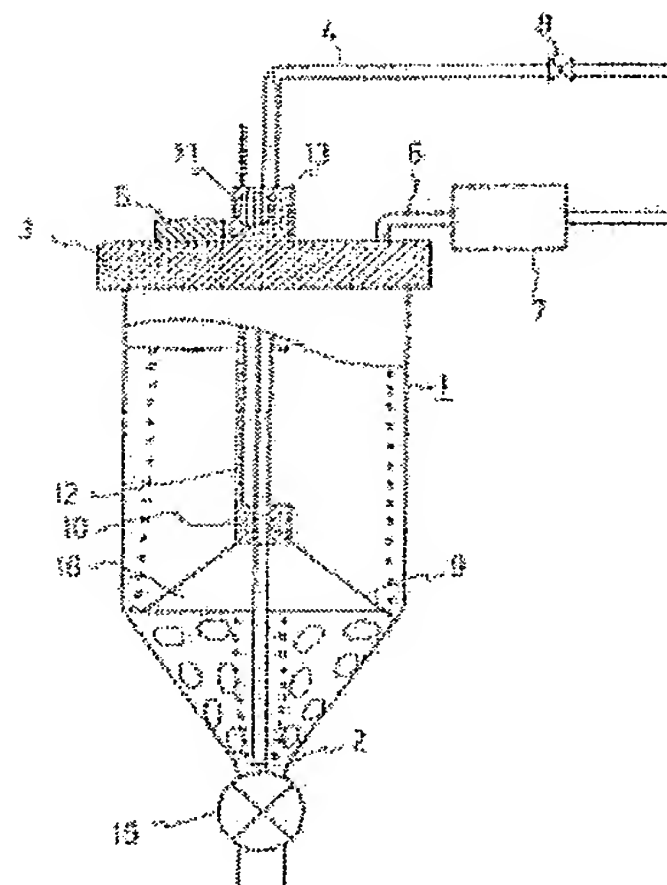
JP63003592 (B)

JP1455137 (C)

Abstract of JP 60251878 (A)

PURPOSE:A cultivation tank of air-lifting agitation type having an aeration pipe opening near the bottom and exhaustion opening is provided with a guide plate that can move along the shaft for setting the aeration pipe to enable optional control of the cultivation volume for cell cultivation.

CONSTITUTION:The cultivation tank has aeration pipe which has the open near the bottom 2 and exhaustion pipe 6 and air is sent through the pipe 4 into the tank to effect cultivation. A guide plate 9 is mounted so that it can move along the shaft for the setting pipe 4. The plate 9 is shifted to vary the cultivation volume for cell cultivation. When the guide 9 is shaped in a cone, the cultivation volume can be optionally varied and further an air tank can be formed for supplying oxygen to the submerged part of the culture mixture.



Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

⑩ 日本国特許庁 (J P)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭60-251878

⑬ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和60年(1985)12月12日

C 12 M 3/00

8412-4B

審査請求 未請求 発明の数 2 (全7頁)

⑮ 発明の名称 培養槽

⑯ 特 願 昭59-107498

⑰ 出 願 昭59(1984)5月29日

⑱ 発 明 者 藤 本 賢 治 奈良県生駒郡平群町富貴1049の73
⑱ 発 明 者 山 本 修 奈良市中町5168の4
⑱ 発 明 者 柏 原 正 人 奈良市白毫寺町8の1
⑲ 出 願 人 積水化成製品工業株式会 奈良市南京終町1丁目25番地
社
⑳ 代 理 人 弁理士 津 田 昭

明 細 書

1 発明の名称 培養槽

2 特許請求の範囲

(1) 培養槽の底部の近くに開口する通気管および排気口を有し、通気管より送入される空気によって培養液を攪拌する培養槽において、その取り付け軸に沿って移動しうるガイド板を取り付け、その移動によって、細胞組織の培養が行なわれる培養容積を任意に増減することができることを特徴とする培養槽。

(2) ガイド板の取り付け軸が通気管であることを特徴とする特許請求の範囲第1項に記載の培養槽。

(3) ガイド板の昇降装置が培養槽の蓋の上に取り付けられ、それによってガイド板の移動を培養槽の外側で行なうことを特徴とする特許請求の範囲第1項または第2項に記載の培養槽。

(4) 培養槽の底部の近くに開口する通気管および排気口を有し、通気管より送入される空気によって培養液を攪拌する培養槽において、その取り

付け軸に沿って移動しうる逆ワン形状のガイド板を取り付け、その移動によって、細胞組織の培養が行なわれる培養容積を任意に増減することができるとともに、培養中に培養液の深部に空気層を形成することができることを特徴とする培養槽。

(5) 逆ワン形状のガイド板の取り付け軸が通気管であることを特徴とする特許請求の範囲第4項に記載の培養槽。

(6) 逆ワン形状のガイド板の昇降装置が培養槽の蓋の上に取り付けられ、それによって逆ワン形状のガイド板の移動を培養槽の外側で行なうことを特徴とする特許請求の範囲第4項または第5項に記載の培養槽。

(7) 2またはそれ以上の数の逆ワン形状のガイド板が、その取り付け軸に取り付けられていることを特徴とする特許請求の範囲第4項ないし第6項のいずれかに記載の培養槽。

3 発明の詳細な説明

本発明は、細胞組織の培養における細胞組織の密度を所定の範囲にコントロールすることができ、

それによって細胞組織の増殖を効率的に行なわせることができる細胞組織の培養槽に関する。

本明細書における「培養容積」は、与えられた豚の細胞組織が培養液中で攪拌されて、移動しながら培養される容積であり、培養液中に仕切を設けて区画された部分の容積であることができる。また「培養容積範囲」は、与えられた細胞組織が、その増殖するのに必要な細胞組織の密度を維持しながら培養される容積の範囲であって、培養容積と同様に、培養液中に仕切を設けて区画された部分の容積であることができるが、細胞組織が増殖するのに必要な細胞組織の密度は、或る範囲の数値を有するから、これを維持するのに必要な培養容積範囲もこれに対応する範囲の数値を有することになるのである。

〔発明の背景および従来技術の説明〕

微生物を培養し、それによって特定の物質を微生物の菌体または培養物中に蓄積することからなるその特定の物質を生産する方法の発明は、各種の抗生物質、アミノ酸またはビタミンなどの製造

において、微生物の培養と同様に放しい攪拌を行なうと、細胞組織が衝突して損傷することが多くなるという傾向がある。このために、動物の細胞組織または植物の細胞組織の培養において、攪拌羽根や攪拌翼等の機械的攪拌を伴わない空気の吹き込みによって培養液を攪拌することが行なわれた。たとえば Wagner は、ヤエヤマアオキ

(*Morinda citrifolia*) の細胞組織の培養によってアントラキノン類を生産する場合に、丸底型の培養槽に通気管(空気送入管)をその底近くに開口し、この通気管から空気を培養液の底に供給し、供給された空気泡の上昇(エアーリフト)によって培養液を攪拌するとともに、培養液に酸素を補給することを行なった。また橋本らは、同様な装置によって、シコニンの生産を、また Smart らも、同様な装置によって、セルペンチンの生産を行なった。

本発明者らは、ラウオルフィア属に属する植物の細胞組織の培養によるレセルピンの生産を企図して、丸底の培養槽に通気管を、その底部の近く

方法として、以前より開発され、そして広く知られるようになっている。このために大量の微生物を培養する方法が開発された。大量の微生物を培養するのに、培養液に空気または酸素を吹き込むと同時に、培養液を激しく攪拌して、微生物の菌体と空気または酸素との接触および微生物の菌体と培養液の栄養源との接触を良好に保つことが広く知られている。

最近、動物の細胞組織を培地に接種し、培養することによって、動物の細胞組織を増殖させる方法が行なわれるようになり、また植物の細胞組織を培地に接種し、培養することによって、その植物の細胞組織を増殖させる方法もよく行なわれるようになってきた。特に植物の細胞組織の場合、植物の細胞組織に含まれる物質、たとえば、アルカロイド、ステロイド、テルペノイド、キノンまたは色素配糖体などの物質を植物の細胞組織の培養による増殖によって生産することが試みられた。しかしながら動物の細胞組織および植物の細胞組織は、いずれも多細胞系であるために、その培養

に開口するように取り付け、その培養槽において、その植物の細胞組織の培養を試みたが、培養液中の細胞組織の密度が高過ぎる場合およびその密度が低過ぎる場合のいずれの場合も、植物の細胞組織の増殖が思わしくないことを知見した。そして植物の細胞組織が培養液中の通気攪拌培養によって順調に生育するには、適当な細胞密度において培養することを必要とすることがわかった。すなわち、一定量の植物の細胞組織がある場合、これを適正な細胞密度において培養しようとする、その一定量の細胞組織を培養するのに必要な培養液の容積があるが、本発明者らは、一定量の細胞組織を培養するのに必要な培養液の容積は、培養槽内にある培養液内に適当な仕切を設けることによって、確保することができ、それによって細胞組織の増殖を順調に行なわせることを見出し、この知見に基づいて本発明に到達した。

〔発明の目的および発明の要約〕

本発明の目的は、培養槽内における培養容積を任意に区画し、その区画において、与えられた植

物の細胞組織を培養することができる培養槽を提供することにある。

本発明は、培養槽の底部の近くに開口する通気管および排気口を有するエアーリフト攪拌式の培養槽において、その取り付け軸に沿って移動することができるガイド板を取り付け、その移動によって、細胞組織の培養容積を任意に増減することができることを特徴とする培養槽である。本発明の培養槽において、ガイド板は、培養槽内の培養液を区画し、その区画内において細胞組織の培養を行なわせることができる仕切の1つであって、このガイド板は、取り付け軸（場合により、通気管であることもできる）に沿ってスライドし、移動することができ、それによって、細胞組織の培養を行なわせる区画の容積（培養容積）を増減することができるものである。また本発明の培養槽におけるガイド板の移動と固定を、培養槽の外側に取り付けたガイド板の昇降および固定装置によって行なわせることができ、それによって培養される細胞組織の増殖を順調に行なわせることがで

きる。

またガイド板を逆ワン型の形状とし、それによって、エアーリフト攪拌によって培養した場合、逆ワン型のガイド板の内側に、培養液の深部に空気（酸素）を供給する空気層を形成しうるようにすることもできる。

〔発明の具体的な説明〕

本発明の培養槽の一例を図面によって説明する。

第1図は、本発明の培養槽の一例の断面を示す側面図、第2図および第3図は、本発明の培養槽の他の例の一部を切欠いてその断面を示す側面図、第4図は、第1図および第3図に示した本発明の培養槽の一例の平面図、そして第5図は、第2図に示した本発明の培養槽の一例の平面図である。

第1図において、1は培養槽、2は培養槽1の半球状の底部、3は培養槽1の蓋、そして4は、培養槽1に空気を供給する通気管であって、その一方の端部は培養槽1の底部2の近くに開口し、その他方の端部は、通常、滅菌装置（図示なし）を通じて空気供給装置（図示なし、たとえば、圧

縮空気溜、空気圧縮機（コンプレッサー）または送風機など）に接続し、この空気供給装置から培養槽1の底部2の近くに空気が供給され、その空気が培養液中を上昇することによって培養液が攪拌される（エアーリフトによる攪拌）。5は原材料の供給口、6は排気管、7は排気管6の管系に取り付けられたフィルター、そして8は通気管4の管系のバルブである。また9は、培養槽1の内部の通気管4に、上下にスライドして移動できるように取り付けられたガイド板、そして10は、ガイド板9の通気管4への取り付け部であって、上下にスライドして移動することができるようにになっている。さらに11は、ガイド板9を上下に動かすとともに、所定の位置に固定する昇降装置、12は、ガイド板9を昇降装置11によって上下に動かす、所定の位置に固定するための連結棒、そして13は、通気管4および連結棒12の軸封部分である。

第2図において、1は培養槽、2は培養槽1の円頭角錐状の底部、3は培養槽1の蓋、そして4

は、培養槽1に空気を供給する通気管であって、第1図の培養槽と同様に、その一端は培養槽1の底部の近くに開口し、その他端は、通常、滅菌装置（図示なし）を通じて空気供給装置（図示なし、たとえば、圧縮空気溜、空気圧縮機（コンプレッサー）または送風機など）に接続し、この空気供給装置から培養槽1の底部近くに空気が供給され、その空気が培養液中を上昇することによって培養液が攪拌される。5は原材料の供給口、6は排気管、7は排気管6の管系のフィルター、そして8は通気管4の管系のバルブである。また9は、培養槽1の内部の通気管4に、その取り付け部10のスライドによって上下しうるように取り付けられたガイド板、そして14はガイド板9を適当な位置に固定するネジである。

第3図において、1は培養槽、2は培養槽1の円頭角錐状の底部、3は培養槽1の蓋、そして4は、培養槽1に空気を供給する通気管であって、第1図および第2図の培養槽と同様に空気供給装置（図示なし）から空気が供給される。5は原材

料の供給口、6は排気管、7は排気管6の管系のフィルター、そして8は、通気管4の管系のバルブである。また9は、培養槽1の内部の通気管4に、その取り付け部10のスライドによって上下しうるように取り付けられた逆ワン形状のガイド板、11は、第1図の培養槽と同様に、ガイド板9を上下に動かすとともに、所定の位置に固定する昇降装置、12は、同様に、ガイド板9を昇降装置11によって上下に動かし、所定の位置に固定するための連結棒、そして13は、通気管4および連結棒12の軸封部分である。さらに15は、培養槽1の培養生成物の取り出し口である。

第6図において、1は培養槽、2は培養槽1の円頭角錐状の底部、3は培養槽1の蓋、そして4は、培養槽1に空気を供給する通気管であって、第1図および第2図の培養槽と同様に空気供給装置（図示なし）から空気が供給される。5は原材料の供給口、6は排気管、7は排気管6の管系のフィルター、そして8は、通気管4の管系のバルブである。また9は、培養槽1の内部の通気管4

であって、その上面は、周囲に向って傾斜し、上面に落下した材料を周囲の隙間から下方の培養容積部分に落せるような形状にすることもできる。ガイド板9の形状を第3図に示すとおりの逆ワン形状にすると、エアーリフト攪拌を行なう培養において、第3図および第6図に示すとおりの空気層16が培養槽1の底部2の上部に形成されるが、この空気層16から培養槽1の底部2の培養容積部分に空気が供給されるので、酸素の要求量の大きい細胞組織であっても、細胞を破壊することなく、液体培地において培養することができる利点を生ずる。さらになおガイド板9を所定の位置に移動し、そして固定するために、第2図に示すとおりの通気管4にネジ14で止めるようにすることができるだけでなく、ガイド板9に連結棒12を取り付け、この連結棒12によるガイド板9の昇降および固定をするための昇降装置11を培養槽1の蓋3の上に設けることもできる。この場合、通気管4および連結棒12の軸封部分13を取り付けることが好ましい。

に、その取り付け部10のスライドによって上下しうるように取り付けられた3個の逆ワン形状のガイド板、そして14は逆ワン形状のガイド板9を適当な位置に固定するネジである。

本発明の培養槽において、培養槽1の水平断面の形状は、第4図および第5図に示すとおりの円形および四角形のいずれの形状であってもよいが、さらに他の多角形状であってもよい。また培養槽1の底部の形状は、第1図、第2図および第3図に示すとおりの半球状および円頭角錐状のいずれであってもよいが、空気の送入による培養液の攪拌ができる形状である限り、いかなる形状であってもよい。さらに、培養生成物の取り出しは培養槽1の蓋3を開けることによって行なわれるが、培養槽1の底部に培養生成物の取り出し口15を設け、培養槽1の蓋3を開けることなく、この取り出し口15から培養生成物を取り出すこともできる。さらにまたガイド板9の形状は、~~第1図および第2図に示すとおりの平板形状であ~~第1図および第2図に示すとおりの平板形状であってもよいが、第3図に示すとおりの逆ワン形状

本発明の培養槽を使用して細胞の培養を行なう場合、培養槽1の蓋3を開け、予め滅菌処理をした培養液および種細胞を培養槽1に装入する。この種細胞の使用量と予め実験的に求められた培養容積範囲から、その種細胞の順調な生育に必要な培養槽の培養容積を算出し、この培養容積が得られるように、ガイド板9の位置を算出して、通気管4におけるその位置にガイド板9を固定した後、培養槽1の蓋3を閉じ、通気管4から空気を培養槽1に吹き込み、それによって培養液への空気の補給と培養液の攪拌を行なって、培養を開始する。第1図および第3図に示す培養槽1のように、ガイド板9の移動および固定を培養槽1の蓋3の上の昇降装置11で行なうことができる場合は、培養槽1の蓋3を開けることなく、培養液と種細胞を原材料の供給口5から培養槽1に装入し、必要ならば培養槽1を小刻みに揺すって装入した全部の種細胞をガイド板9の下に落とし込み、そしてガイド板9を所定の位置に移動し、固定した後に、通気管4から空気を培養槽1に送入して、同様に

培養を開始することもできる。培養を開始してから1〜2日後に、細胞が増殖し、それによって細胞の量が培養容積範囲を超え、細胞の順調な生育に必要な培養容積が増大するので、その時、この培養容積が得られるように、ガイド板9の位置を算出し、その位置までガイド板9を引き上げ固定する。そして通気管4から空気を培養槽1に送入して培養を開始する。第2図の培養槽の場合、ガイド板9の移動と固定を培養槽1の蓋3を開けて行なった後、培養槽1の蓋3を閉じて培養を再開するが、第1図および第3図の培養槽のように、培養槽1の外でガイド板9の移動と固定を行なうことができる装置の場合は、ガイド板9の移動と固定を培養槽1の蓋3を開けることなく行ない、直ちに培養を再開することができる。さらに1〜2日後に、細胞が増殖した時、前述のガイド板9の引き上げと固定および培養槽1への空気の送入による培養の再開を繰り返す、さらに細胞の増殖によるガイド板9の引き上げと固定および空気の培養槽1への送入による培養の開始を、細胞の増

殖による培養容積の増大が培養槽1の容積の限度に達するまで繰り返して、増殖した細胞を取得する。第1図および第2図の培養槽のように培養生成物の取り出し口15のない場合は、培養槽1の蓋3を開いて増殖した細胞を取り出すが、第3図の培養槽のように培養生成物の取り出し口15がある場合は、この取り出し口15から増殖した細胞を培養液とともに取り出し、増殖した細胞を取得する。

本発明の培養槽およびこれを使用した培養装置は、植物の細胞組織の培養に使用できるだけでなく、他の多細胞系の細胞組織、たとえば、動物の細胞組織の培養に好適に使用され、また微生物の培養にも使用することができる。

〔発明の効果〕

本発明の培養槽は、その培養容積を任意に変更することができるので、細胞組織の培養中に、その培養容積を、細胞組織の順調な生育および増殖に必要な範囲（培養容積範囲）に調整することができ、それによって、細胞組織の増殖を効率的に

行なうことができる。

また本発明の培養槽は、逆ワン形状のガイド板を取り付けているので、エアリーフト攪拌を行ないながら培養をする場合、培養槽の深部に空気層を生じ、この空気層から酸素を培養槽の深部に供給することができる。またこのガイド板の上面は周辺に向かって傾斜しているので、たとえばエアリーフトによって軽い細胞組織が培養容積部分の外のガイド板上に上げられたとしても、ガイド板の下

4 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の培養槽の一例の断面を示す側面図、第2図および第3図は、他の例の一部を切欠いてその断面を示す側面図、第4図は、第1図および第3図に示した本発明の培養槽の一例の平面図、そして第5図は、第2図に示した他の例の平面図である。

〔図面符号〕

- 1 : 培養槽
- 2 : 培養槽1の底部

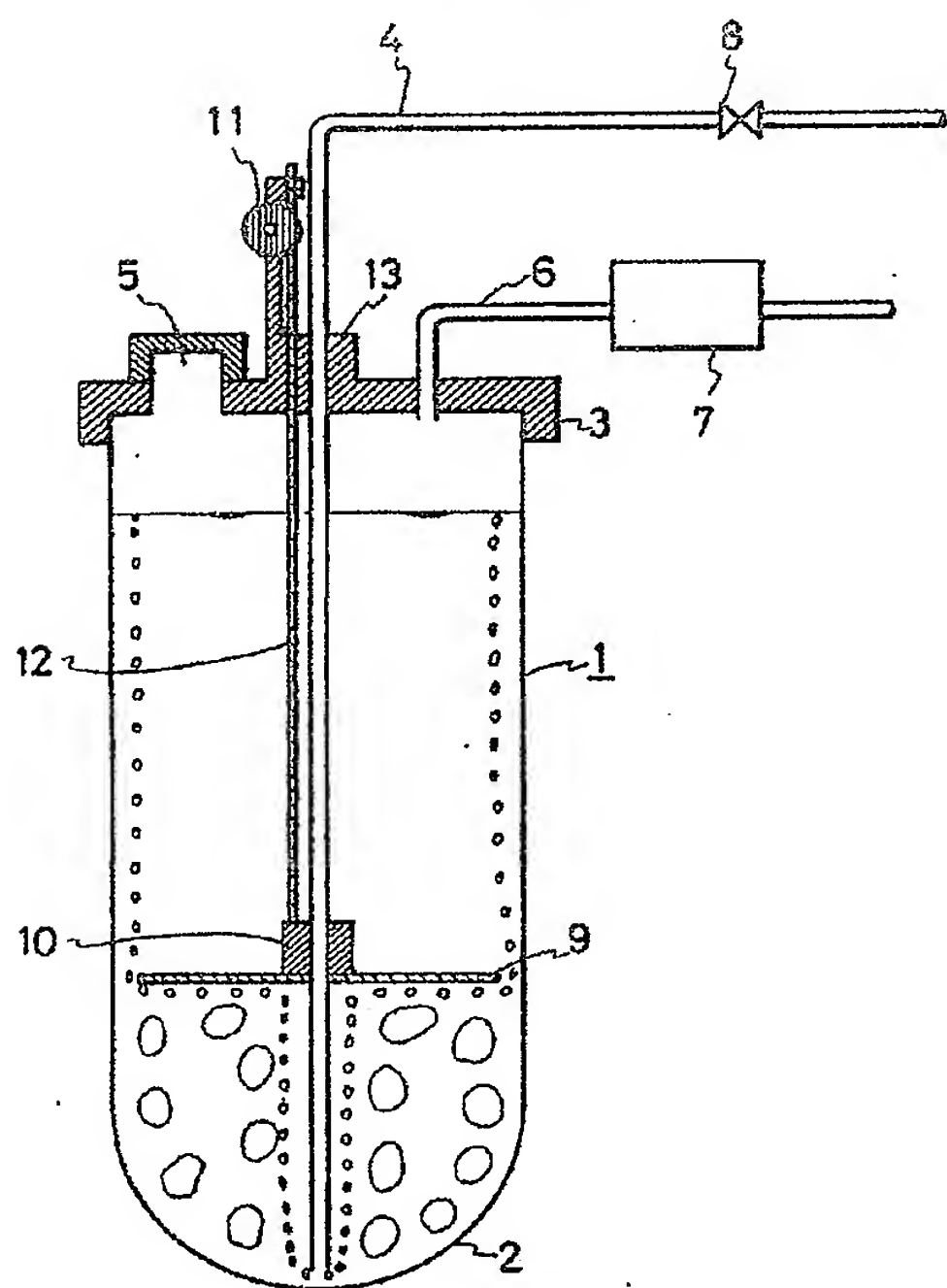
- 3 : 培養槽1の蓋
- 4 : 通気管
- 5 : 原材料の供給口
- 6 : 排気管
- 7 : 排気管6の管系のフィルター
- 8 : 通気管4の管系のバルブ
- 9 : ガイド板
- 10 : ガイド板9の取り付け部
- 11 : ガイド板9の昇降装置
- 12 : ガイド板9と昇降装置11の連結棒
- 13 : 密封部分
- 14 : ガイド板9を固定するネジ
- 15 : 培養生成物の取り出し口
- 16 : 空気層

出願人 積水化成工業株式会社

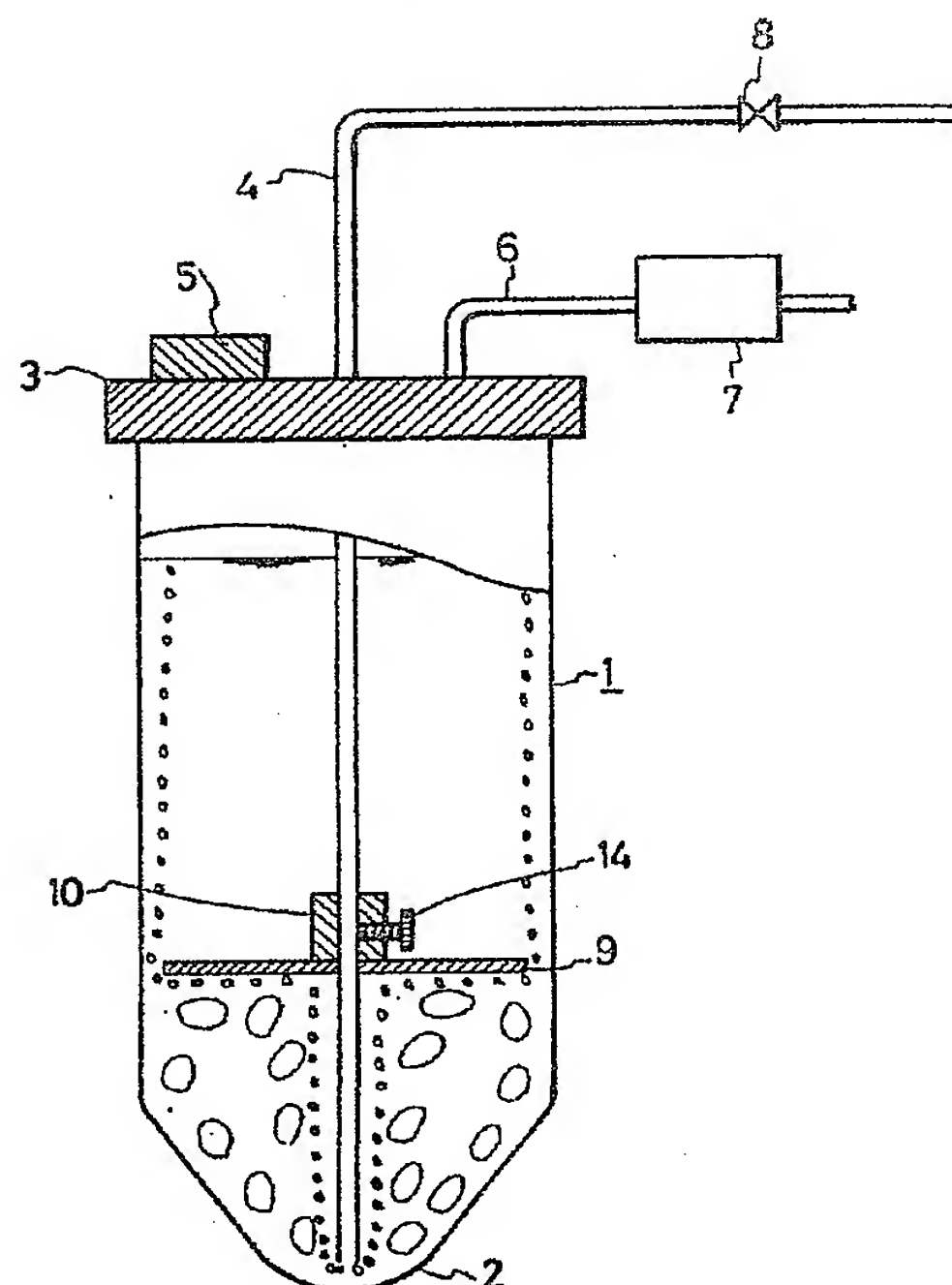
代理人 弁理士 津田 昭

図面の浄書(内容に変更なし)

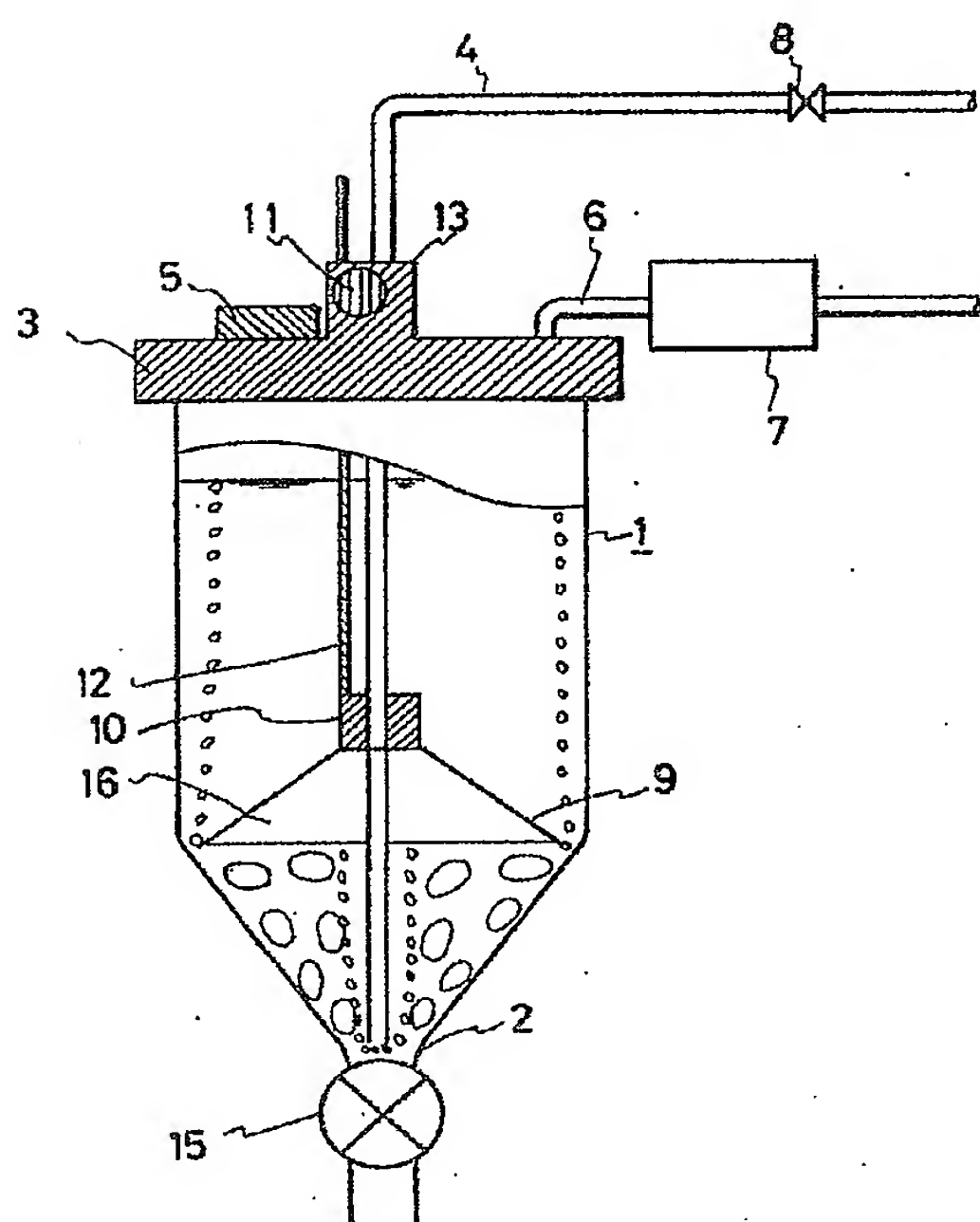
第1図



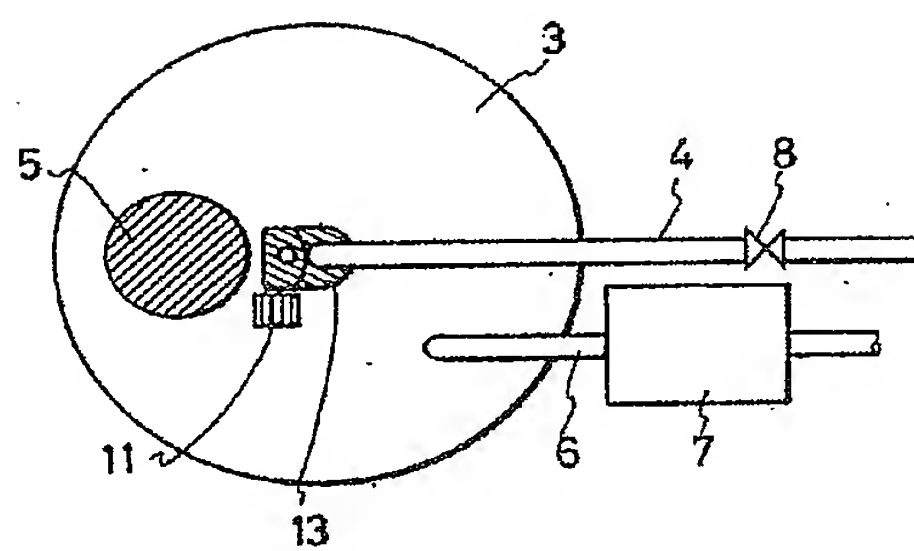
第2図



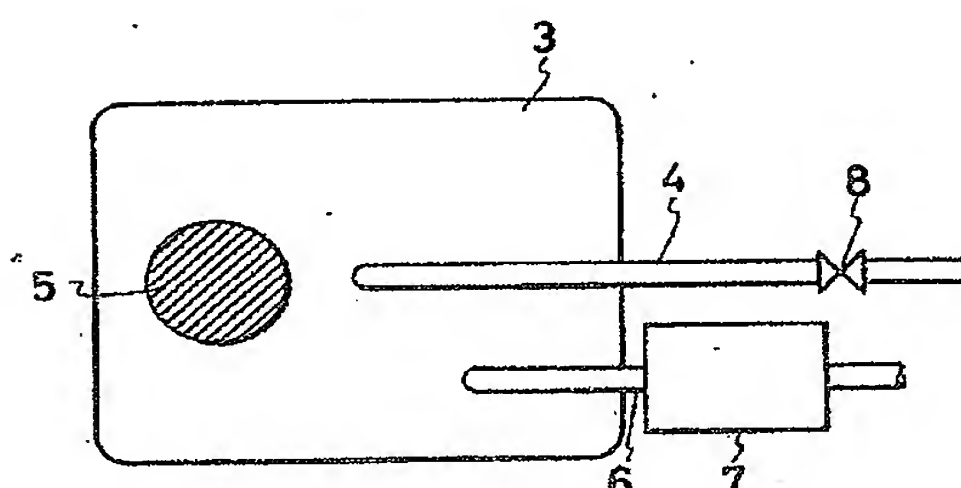
第3図



第4図



第5図



特開昭60-251878 (7)

手続補正書 (自 発)

昭和 59 年 6 月 25 日

特許庁長官 志賀 学 殿

1 事件の表示 昭和 59 年特許願第 107498 号

2 発明の名称 培養槽

3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

奈良県奈良市南東終町一丁目 25 番地

(244) 積水化成工業株式会社

代表者 川 本 貢

4 代理人

東京都港区虎ノ門 1-11-5 森谷ビル

(8715) 弁護士 津 田 昭

〒105 電 話 03-595-1530

5 補正命令の日付 なし

6 補正の対象 図面の補充

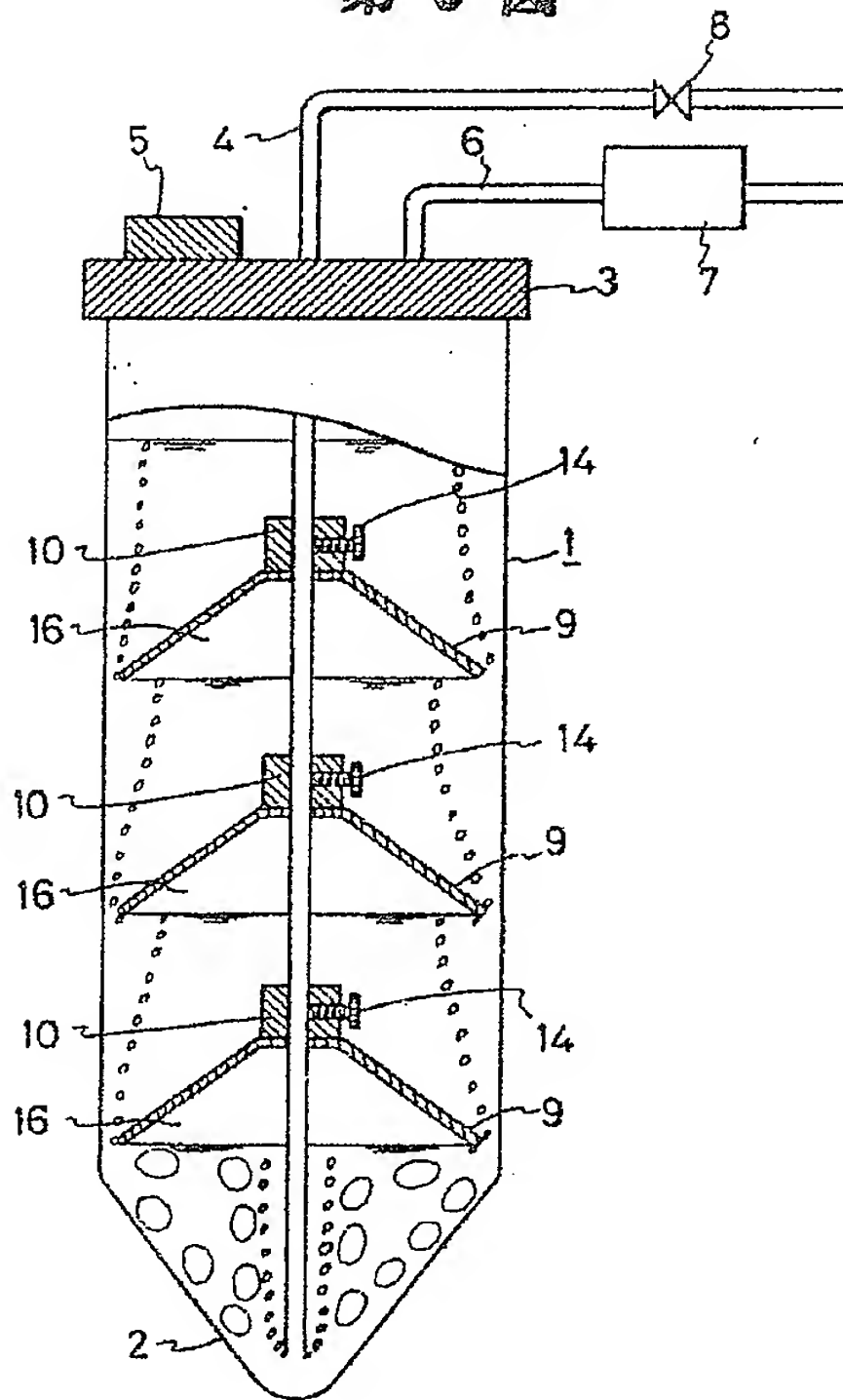
7 補正の内容 別紙のとおり

8 添付書類の目録

(1) 図 面

5 通

第 6 図



手続補正書 (方式)

昭和 59 年 9 月 4 日

特許庁長官 志賀 学 殿

1 事件の表示

昭和 59 年特許願第 107498 号

2 発明の名称 培養槽

3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

奈良県奈良市南東終町一丁目 25 番地

(244) 積水化成工業株式会社

代表者 川 本 貢

4 代理人

東京都港区虎ノ門 1-11-5 森谷ビル

(8715) 弁護士 津 田 昭

〒105 電 話 03-595-1530

5 補正命令の日付 昭和 59 年 8 月 28 日

(昭和 59 年 8 月 28 日 発送)

6 補正の対象 明細書の図面の簡単な説明の欄

7 補正の内容

明細書第 17 頁第 11 ~ 17 行の「4. 図面の簡単な説明」を別紙のとおり訂正します。

4 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明の培養槽の一例の断面を示す側面図、第 2 図および第 3 図は、他の例の一部を切欠いてその断面を示す側面図、第 4 図は、第 1 図および第 3 図に示した本発明の培養槽の一例の平面図、第 5 図は、第 2 図に示した他の例の平面図、そして第 6 図は、本発明の他の一例の一部を切欠いてその断面を示す側面図である。